

Anorganski spojevi sumpora u ljudskom tijelu. II. Tiocianati.

DOI: [10.15255/KUI.2017.023](https://doi.org/10.15255/KUI.2017.023)

KUI-14/2018

Pregledni rad

Prispjelo 10. lipnja 2017.

Prihvaćeno 15. ožujka 2018.

Ovo djelo je dano na korištenje pod
Creative Commons Attribution 4.0
International License

S. Stanković i R. Kiralj*

Veleučilište u Bjelovaru, Trg Eugena Kvaternika 4, 43 000 Bjelovar, Hrvatska

Sažetak

Sumpor je najzastupljeniji mikroelement u ljudskom tijelu, u obliku mnogobrojnih ne samo organskih već i anorganskih spojeva s različitim ulogama. Ovim pregledom prikazani su anorganski spojevi sumpora iz klase endogenih tiocianatnih spojeva u ljudskom organizmu. Ta se klasa izvodi iz tiocianatnog aniona SCN^- ponajprije enzimskim i neenzimskim reakcijama u stanicama ili izvanstaničnom prostoru. SCN^- nastaje detoksikacijom endogenih ili egzogenih cianida, djelovanjem endogene bakterijske flore, metabolizmom cianogene hrane ili industrijskom intoksikacijom. Opisani su molekularni i ionski spojevi: tiocianska, izotocianska, hipotocianska, (cianido-C)sulfinska i (cianido-C)sulfonska kiselina; soli tih kiselina i aniona 1,2,3-tricia-notrisulfida(1-) s najzastupljenijim kationima u organizmu (Na^+ , K^+ , Ca^{2+} i Mg^{2+}); cianotiocianat i bis(cianido-C)sumpor(S-S) (tiocianogen). Anioni i molekule jesu endogene reaktivne sumporove vrste sa svojstvima pseudohalogenata. Nalaze se u značajnim koncentracijama u tjelesnim tekućinama, gdje imaju zaštitne uloge – detoksikacijsku (uklanjanju cianid) i antimikrobne uloge (mikrobicidno i mikrobiostatski djeluju na razne bakterije, na neke viruse, gljivice i parazite). Metabolički su povezani s endogenim okso spojevima sumpora u ljudskom tijelu. Može se očekivati da će istraživanja o opisanoj klasi sumpornih spojeva razjasniti u bliskoj budućnosti njihove molekulske mehanizme djelovanja u ljudskom tijelu.

Ključne riječi

Tiocianati, hipotiocianati, cianotiocianat, tiocianogen, tritocianati, međuprodukti raspada hipotiocianata

1. Uvod

Sumpor (CAS registracijski broj: 7704-34-9, relativna molekulska masa 32,06) je kemijski element 16. skupine periodnog sustava, koji ima četiri stabilna izotopa (^{32}S , ^{33}S , ^{34}S i ^{36}S) među kojima je ^{32}S najzastupljeniji (95 % ukupnog sumpora na Zemlji).^{1–3} Sumpor nije element obilno zastupljen u Zemljinoj kori, jer ga ima svega 260 ppm.^{3,4} Kemijski je reaktivan element,^{4,5} zbog čega se nalazi u mnogobrojnim anorganskim i organskim spojevima u različitim oksidacijskim stanjima (–II, II, IV ili VI).⁶

Živi svijet ne postoji bez sumpora.³ U ljudskom tijelu sumpor je najzastupljeniji mikroelement:⁷ u tkivima mu se maseni udjel kreće od 0,2 % do 1,2 %.^{3,5} Ima ga oko 140 g u osobi teškoj 70 kg.^{3,8} Potrebno ga je stalno unositi hranom u obliku organskih i anorganskih spojeva,⁹ s preporučenim dnevnim unosom oko 900 miligrama.^{3,8}

Uloge sumpora u ljudskom tijelu su mnogobrojne.^{10–14} Primjerice, nužan je za stvaranje proteina kolagena i keratina, odgovornih za cijeljenje rana i za zdravlje kože, kose, noktiju i vezivnog tkiva. Nadalje, sumpor je važan i za pravilan razvoj hrskavice i tetiva. Nalazi se u mnogobrojnim važnim spojevima kao što su glutation (GSH), koenzim A (CoA), vitamini tiamin (B_1) i biotin (B_7), lipoična kiselina, taurin, inzulin i hormoni adenohipofize. Sudjeluje i u detoksikacijskim procesima, koagulaciji krvi i proizvodnji nekih žučnih kiselina. Vrlo rijetko pomanjkanje sumpora u ljudskom organizmu događa se u slučajevima nedovoljnog unosa proteina.^{11,12}

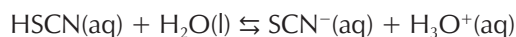
Općenito se u literaturi malo govori o anorganskim spojevima sumpora u ljudskom tijelu na sustavan način. U nedavnom pregledu¹⁵ prikazani su okso spojevi sumpora koji su endogeni, tj. stvaraju se u ljudskom tijelu iako se mogu pojaviti u njemu i na druge načine. Ovim se pak pregledom predstavlja druga endogena anorganska skupina sumporovih spojeva, iz klase tiocianata. Sam tiocianat ima anorgansku prirodu – postoji kao anorganski anion SCN^- , ali i organsku kada se veže na radikal ($\text{R}-\text{SCN}$).¹⁶ Nadalje, anorganski amonijev tiocianat NH_4SCN prelazi u organsku tioureu H_2NCSNH_2 i obrnuto.¹⁷ Pregledom nisu obuhvaćene endogene organske vrste koje nastaju iz anorganskih tiocianata.

Tiocianatni anion SCN^- je pseudohalogenidna vrsta, tj. sudjeluje u reakcijama karakterističnim za halogenide (kloridni, bromidni i jodidni anion).¹⁸ Na sličan način ponašaju se i drugi endogeni anorganski tiocianati u ljudskom tijelu. SCN^- i drugi anorganski anioni koji ga sadrže pojavljuju se u ljudskom organizmu u obliku soli s metalnim kationima poput Na^+ , K^+ , Ca^{2+} i Mg^{2+} .

2. Tiocianska i izotocianska kiselina i tiocianatni anion, produkti detoksikacije cianida

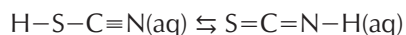
Tiocianska kiselina (CAS registarski broj: 463-56-9, relativna molekulska masa: 59,09) nestabilna je bezbojna tekućina formule HSCN .^{19–21} U vodenim otopinama disocijacijom daje tiocianatni anion (SCN^-) prije poznat i pod nazivom rodanid:^{20,22}

* Autor za dopisivanje: Dr. sc. Rudolf Kiralj
e-pošta: rkiralj@vub.hr

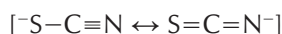


Vrijednost pK_a tiocianske kiseline pri 25 °C iznosi $-1,8$, što znači da se radi o vrlo jakoj kiselini. Kod pH 6,9 (pH u mišićnim stanicama)²³ i 7,4 (pH krvi) HSCN je u potpunosti disocirana. Za pH 6,3 (pH sluznice usne šupljine)²⁴ HSCN je gotovo 100 % disocirana, dok nedisocirane kiseline ima tek u tragovima (oko $2,5 \cdot 10^{-8}$). Na kraju, pri pH 2,9 (pH lumena želuca)²⁵ isključivo je prisutan SCN^- , dok HSCN-a ima vrlo malo (0,006 %).

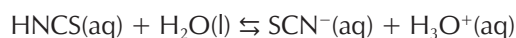
Tiocianska kiselina HSCN u vodenim otopinama tautomerizira u izotiociansku kiselinu HNCS:^{26,27}



Međutim disocijacijom obiju kiselina nastaje potpuno isti tiocianatni anion SCN^- , koji se može prikazati sljedećim rezonantnim formulama:



Izotiocianska kiselina (CAS registarski broj: 3129-90-6, relativna molekulska masa: 59,09) umjereno je jaka kiselina ($pK_a = 1,28$)²⁶ za razliku od tiocianske kiseline, koja je vrlo jaka kiselina ($pK_a \leq 0$).²⁸ Disocira prema sljedećoj jednažbi:



Na osnovi vrijednosti pK_a dobiva se sljedeća raspodjela molekulskih vrsta. Kod fiziološkog pH od 7,4 i pH 6,3 te 6,9 dominantna je vrsta SCN^- (gotovo 100 %), dok nedisocirane kiseline gotovo da i nema. Kod pH 7,4 udjel HNCS-a iznosi $7,6 \cdot 10^{-7}$ %, kod pH 6,9 on je nešto viši od 0,0002 %, a za pH 6,3 je oko 0,001 %. Pri pH 2,9 količina SCN^- je oko 97,7 %, dok HNCS-a ima u značajnijim količinama (2,3 %).

U molekularnom oblaku Sagittarius B2 u središtu Mliječnog puta otkriveno je da je množinski omjer izotiocianske i tiocianske kiseline u rasponu 2 – 7.²⁹ Prema rezultatima istraživanja koje su proveli *Beard i sur.*³⁰ takozvana tiocianska kiselina je u plinovitom stanju smjesa s najmanje 95 % množinskog udjela HNCS-a, što znači da je množinski omjer kiselina HNCS i HSCN najmanje 19. Izotiocianska kiselina biološki je aktivna molekula.³¹ Tiocianatni anion SCN^- reagira s ionima H_3O^+ u želučanom soku, čime se dobiva upravo izotiocianska kiselina. Ona je stabilnija od tiocianske kiseline u plinskoj fazi, a nešto manje u vodenoj otopini, a i zastupljenija je u prirodi.^{31,32} U ljudskom organizmu je u značajnijim koncentracijama ima kod niskog pH, dok HSCN-a gotovo da i nema.³² Vrsta koja prevladava u svim tjelesnim tekućinama je tiocianatni anion.

Tiocianska kiselina je bezbojna tekućina na temperaturama iznad 5 °C i nestabilna pri zagrijavanju.³³ HSCN je planarna molekula s duljinama veza C–N 115 pm, C–S 170 pm i S–H 134 pm.³² Vezni kutevi kod tiocianske kiseline su N–C–S 176° i C–S–H 94°. Izotiocianska kiselina HNCS kristalna je krutina nestabilna na temperaturama ispod 0 °C.³⁴ Planarne je strukture kao i tiocianska kiselina.³⁵ Geometrija molekule HNCS-a je sljedeća: duljine veza su

C–S 157 pm, C–N 121 pm, N–H 100 pm, a vezni kutevi N–C–S 173° i C–N–H 131–132°.

Tiocianat se može dobiti zagrijavanjem cianida s elementarnim sumporom, polisulfidom ili tiosulfatom.³⁶ Tiocianatni anion SCN^- je bezbojan, umjereno toksičan, s linearnom molekulskom strukturom i vezama C–N i C–S koje su značajno podložne utjecaju okoline. Primjerice, u kristalnoj strukturi heksilamonijeva tiocianata³⁷ anion SCN^- veže se na katione ionskim i vodikovim vezama. Duljine veza C–S i C–N iznose 165 pm i 115 pm, a vezni kut N–C–S je 179°. U kristalu karbamotioil piridinijevog tiocianata³⁸ anion se na sličan način veže na katione, što ima kao posljedicu sličnu strukturu: duljine veza C–S i C–N iznose 163 pm i 116 pm, dok je vezni kut N–C–S također 179°. Međutim tiocianatni anion može biti koordiniran na metalne katione na različite načine, što će definirati strukturu aniona. Na primjer, u kristalnoj strukturi polimernog niklovog(II) kompleksa formule $[(\mu_{N,S}\text{-SCN})_2\{\text{Ni(ampi)}\}_n]$ (ampi = 1-(2-aminoetil)pirolidin)) svaki anion je premošćujući ligand, koji se atomom sumpora veže za jedan kation i atomom dušika za drugi kation.³⁹ Duljine veza C–S i C–N su 165 pm i 117 – 119 pm, a vezni kut N–C–S je u rasponu 177 – 179°. U kristalu kompleksnog spoja *bis*[N-(2-*t*-butilfenil)imin]acenaften *bis*(tiocianat)živa(II) jedan tiocianatni anion se atomom sumpora veže na jedan metalni kation, a drugi anion atomom sumpora na dva kationa.⁴⁰ Duljine veza C–S i C–N su 163 – 168 pm i 115 pm, a vezni kut S–C–N je 177 – 178°.

Red veze vrlo je koristan pokazatelj elektronske strukture u neutralnim molekulama i ionima. *Gillespie i Robinson*⁴¹ objavili su metodu kojom se dobiva jednostavan izraz koji povezuje red veze S–O i duljinu veze S–O, primjenjujući strukturne i spektroskopske podatke za jednostavne molekule (duljine i frekvencije istezanja veza S–O). U pregledu o anorganskim okso spojevima sumpora¹⁵ taj je izraz upotrebljen za izračune, te je po njihovoj metodi izveden analogni izraz za vezu S–S. Također se red veze C–S jednostavno može izračunati iz duljine veze C–S prema analognom izrazu, koji je moguće izvesti iz podataka za male molekule s vezom C–S (ugljikov disulfid^{20,42} S=C=S i metantioil^{20,43} H₃C–SH):

$$n(\text{C-S}) = \frac{20,92}{(d(\text{C-S})/100 \text{ pm})^{5,73}} + 0,3 \quad (1)$$

gdje je $n(\text{C-S})$ red veze C–S, a $d(\text{C-S})$ duljine veze C–S. Duljina jednostruke veze C–S je 182 pm (metantioil),²⁰ a dvostruke 155 pm (ugljikov disulfid).⁴²

Red veze C–N moguće je izračunati iz duljine veze C–N prema formuli koja se može izvesti na isti način kao jedn. (1), iz podataka za jednostavne spojeve koji sadrže vezu C–N (cijanovodik^{20,44} HC≡N, metanimin^{45,46} H₂C=NH, pirazin⁴⁷ C₄N₂H₄ i metilamin^{20,48} H₃C–NH₂):

$$n(\text{C-N}) = \frac{5,81}{(d(\text{C-N})/100 \text{ pm})^{5,97}} + 0,5 \quad (2)$$

gdje je $n(\text{C-N})$ red veze C–N, a $d(\text{C-N})$ duljine veze C–N. Duljina jednostruke veze je 147 pm (metilamin),²⁰

parcijalno dvostruke s $n(\text{C}-\text{N}) = 1,5$ je 134 pm (pirazin),⁴⁷ dvostruke 127 pm (metanimin)⁴⁸ i trostruke veze 115 pm (cijanovodik).²⁰

Primjenom jedn. (1) i (2) na opisane molekulske strukture kiseline HSCN i HNCS i zajedničkog aniona SCN^- dobiva se dublji uvid u elektronska svojstva tih vrsta. Veza tiocian-ske kiseline $\text{C}-\text{N}$ je trostruka ($n(\text{C}-\text{N}) = 3,0$), a veza $\text{C}-\text{S}$ parcijalno je dvostrukog karaktera ($n(\text{C}-\text{S}) = 1,3$). Međutim u molekuli izotiocianske kiseline, zbog izraženije delokalizacije elektrona veza $\text{C}-\text{N}$ parcijalno je trostrukog karaktera ($n(\text{C}-\text{N}) = 2,4$), a veza $\text{C}-\text{S}$ bliska je dvostrukoj vezi ($n(\text{C}-\text{S}) = 1,9$). Općenito je poznato da delokalizacija elektrona doprinosi stabilizaciji molekule,⁴⁹ što objašnjava činjenicu da je HNCS stabilnija od HSCN³² i zato je zastupljenija u prirodi i živom svijetu.^{29–31} Kada je anion SCN^- pod slabijim utjecajem okoline kao u opisanim kristalima organskih spojeva,^{37,38} po elektronskim svojstvima sličan je grupi SCN u kiselini HSCN. Veza $\text{C}-\text{S}$ parcijalno je dvostrukog karaktera u heksilamonijevom tiocianatu³⁷ ($n(\text{C}-\text{S}) = 1,5$) i u karbamotioil piridinijevom tiocianatu³⁸ ($n(\text{C}-\text{S}) = 1,6$). Veza $\text{C}-\text{N}$ je pak bliska trostrukoj u heksilamonijevom tiocianatu³⁷ ($n(\text{C}-\text{N}) = 2,9$) ili je trostruka u karbamotioil piridinijevom tiocianatu³⁸ ($n(\text{C}-\text{N}) = 3,0$). Međutim, SCN^- je pod jačim utjecajem okoline kada se anion koordinira na metalne katione kao u kristalima metalnih kompleksa.^{39,40} U niklovom(II) kompleksu anion se samo atomom sumpora veže na katione,³⁹ što uzrokuje određene promjene u vezi $\text{C}-\text{S}$ ($n(\text{C}-\text{S})$ iznosi 1,3 – 1,6), ali ne i u vezi $\text{C}-\text{N}$ ($n(\text{C}-\text{N}) = 3,0$). Drugačije je u živinom(II) kompleksu,⁴⁰ u kojem se anion veže na metal atomima sumpora i dušika, što ne uzrokuje značajne promjene u vezi $\text{C}-\text{S}$ ($n(\text{C}-\text{S}) = 1,5$), ali veza $\text{C}-\text{N}$ dobiva parcijalni trostruki karakter ($n(\text{C}-\text{N})$ iznosi 2,6 – 2,8).

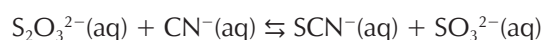
Postoje različiti izvori tiocianata.⁵⁰ Tiocianat i cianid nastaju antropogeno, u industrijskim procesima kao što su kemijska obrada zlatnih ruda i koksiranje ugljena. Tiocianat također nastaje u organizmu biogenom detoksikacijom cianida ili kao zaštitno sredstvo protiv mikrobnih infekcija. Izvori tiocianata uz biljke osim ostalog uključuju i biotički i abiotički raspad organske tvari. U općem smislu, tiocianatni ion je manje toksičan nego cianid, ali je stabilniji i predstavlja velik problem za okoliš.

Izotiocianati se ponajprije nalaze u zeljastom povrću.⁵¹ Mogu imati veliku ulogu u prevenciji raka, kardiovaskularnih i neurodegenerativnih bolesti, dijabetesa te pomažu u cijeljenju kožnih oštećenja.^{51–53} U organizam se unose hranom u koncentracijama koje su za nekoliko redova veličine manje od koncentracija koje uzrokuju toksične učinke.⁵¹

Tiocianat je otkriven u zeljastom povrću, mlijeku i siru, a također se može pronaći u tjelesnim tekućinama kao što su slina, serum i urin.^{54,55} U krvi i urinu nalazi se u mikromolarnim koncentracijama, a u slini čak u milimolarnim koncentracijama.^{56,57} Vrijeme poluživota u satima ima u sljedećim tjelesnim tekućinama: krvi, mokraći, slini, tkivima, mlijeku, želučanom soku, cerebrospinalnoj tekućini.⁵⁶ Prirodni je antioksidans u imunološkom sustavu koji sprječava štetan utjecaj mijeloperoksidaze na stanice pluća i vodikova peroksida.⁵⁴ Tiocianat je produkt metabolizma cianida iz duhanskog dima (važan biomarker koji razlikuje pušače od

pasivnih pušača i nepušača) i drugih izvora (metabolizam cianogene hrane, djelovanje crijevne flore, upalni procesi i intoksikacija industrijskim dimovima).^{58,59} Cianid reagira s disulfidnim vezama proteina plazme, pa tako nastaju stabilni adukti protein-tiocianat.⁶⁰ U nepušača su detektirane bitno manje koncentracije tiocianata nego li u pasivnih ili aktivnih pušača.^{57,61} Tiocianat je krajnje opasan po život sisavaca u koncentracijama većim od 15 mg/100 ml krvi.⁵⁰ Može doseći toksične koncentracije u plazmi u slučaju kad se natrijev nitroprusid upotrebljava za liječenje raznih kardiovaskularnih oboljenja.⁵⁵ Nasuprot tome, niske koncentracije tiocianata u plazmi kod pušača mogu upućivati na toksičku ambliopiju (slabovidnost). Ostali klinički poremećaji kao što su ataksična neuropatija, tropski dijabetes, endemska gušavost i kretenezam mogu biti posljedica povišene razine tiocianata u tjelesnim tekućinama zbog konzumacije cianogenih glikozida u škrobu. Prema tome, za pravodobno postavljanje dijagnoze i procjenu ljudskog zdravlja iznimno je važno određivanje koncentracije tiocianata u tjelesnim tekućinama.⁵⁴ Za vrijeme dugotrajnog izlaganja tiocianat pokazuje svoju antitiroidnu aktivnost.⁵⁰ Kao pseudohalogeni ion inhibira unos joda u štitnu žlijezdu mehanizmom kompetitivne inhibicije transmembranskog proteinskog nosača NIS (natrij/jodid simporter).^{62–64} Iz tih razloga pretjerani unos glukozinolata (kupusa, kelja, brokule, repe, cvjetače) i cianogenih glikozida (manioke, graha, slatkog krumpira, sirka, lana) može izazvati gušu.⁶³ Ti spojevi zajedno s tiocianatom nazvani su goitrogenima. *Bivolarska i sur.*⁶⁵ su na izučavanom skupu mladih majki utvrdili mikrogramske koncentracije tiocianata u urinu (srednja koncentracija je bila $3,13 \pm 1,90 \mu\text{g ml}^{-1}$), koje negativno koreliraju s koncentracijama jodida u urinu (koeficijent korelacije je $-0,72$). Drugim riječima, povećanjem koncentracije tiocianata smanjuje se koncentracija jodida u urinu. *Qin i sur.*⁶² pokazali su da vode (posebice kišna voda) mogu biti važan izvor tiocianata pa i perklorata i jodida.

Cianid može dospjeti u tijelo *per os*, inhalacijom ili preko kože.⁵⁶ Postoji nekoliko metaboličkih procesa kojima se u organizmu obavlja detoksikacija cianida u tiocianat.^{56,66} Jedan od njih je kataliziran enzimom rodanzom (Rhod, tiosulfat-cianid-sumporttransferaza, EC 2.8.1.1).^{56,66,67} U toj reakciji tiosulfat i cianid reagiraju proizvodeći tiocianat i sulfat:



Najprije tiosulfat ili neki drugi donor sumpora aktivira enzim (E) pa nastaje kompleks $\text{E}-\text{S}-\text{SO}_3^{2-}$.⁶⁷ Nastali kompleks se raspada na SO_3^{2-} i aktivirani kompleks ($\text{E}-\text{S}$). U nastavku $\text{E}-\text{S}$ i $\text{C}-\text{N}^-$ vežu se u kompleks $\text{E}-\text{S}-\text{C}-\text{N}^-$. Najposlije $\text{E}-\text{S}-\text{C}-\text{N}^-$ raspada se na E i SCN^- . Reakcija katalizirana rodanzom je reverzibilna, tj. sulfat i tiocianat reagiraju stvarajući prvotni tiosulfat i cianid.⁶⁸ Drugi put degradacije tiocianata sastoji se u tome da 3-merkaptopiruvat (nastaje enzimskom transaminacijom L-cisteina) obavlja funkciju donora sumpora, a reakcija je na sličan način katalizirana enzimom 3-merkaptopiruvat-sumpor-transferazom (3MST, EC 2.8.1.2).^{66,69}

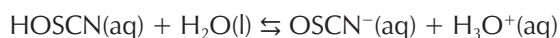


Konačni produkti reakcije su piruvat i tiocianat. Opisana dva mehanizma čine 80 % ukupne detoksikacije cianida u organizmu.⁶⁶

Mnoga istraživanja govore u prilog tome da je tiocianat, u svojstvu supstrata humanih peroksidaza, antioksidans s potencijalnim terapijskim djelovanjem u obrani tijela domaćina koji štiti od zaraze.⁷⁰ Tiocianat reagira s tiolima u bakterijskoj stanici – primjerice s cisteinskim bočnim lancima enzima i drugih proteina i glutationom, čime ti spojevi postaju neaktivni (grupa –SH prevodi se u –SSCN i zatim u –SOH).^{71,72}

3. Hipotiocianska kiselina i hipotiocianatni anion, osnovna antimikrobna zaštita

Hipotiocianska kiselina ili vodikov monoksotiocianat (CAS registarski broj: 64253-39-0, relativna molekulska masa 75,09), kemijske formule HOSCN, primjer je slabe kiseline o kojoj se poprilično malo saznaje iz literaturnih izvora.^{18,73} Njezina vrijednost pK_a iznosi 4,85 na 25 °C.⁷³ Hipotiocianska kiselina disocira dajući hipotiocianatni ion (monoksotiocianat), $OSCN^-$:



Kod fiziološkog pH krvi od 7,4 vrsta koja bi prevladavala je hipotiocianat (više od 99 %), dočim bi se udjel nedisocirane kiseline mogao zanemariti ($\approx 0,3$ %). Hipotiocianat bi bio dominantna vrsta i kod pH citoplazmatskog matriksa mišićnih stanica 6,9²³ i pH sluznice usne šupljine 6,3²⁴ i njegov udjel bi bio redom 99,1 % i 96,6 %. Udjel kiseline HOSCN bio bi 0,9 % kod pH 6,9, a kod pH 6,3 bio bi još bitniji i on bi iznosio 3,4 %.

Međutim Ashby¹⁸ tvrdi da je HOSCN kao elektrofil reaktivniji od svojeg aniona te da je sam anion vrlo reaktivna vrsta koja dosad nije izolirana u čistom obliku. Kalmár i sur.⁷⁴ su pak pronašli da su HOSCN i anion nepostojani u vodenim otopinama te da se raspadaju pri pH vrijednosti od 4 do 7. Tim se činjenicama postavlja pitanje o stvarnom udjelu kiseline i njezinog aniona u biološkim sustavima, posebno u ljudskom tijelu.

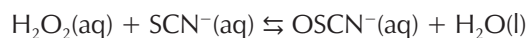
Još do sada nije poznata eksperimentalno određena struktura kako aniona tako ni kiseline, a mogući razlozi tomu su gotovo potpuna disocijacija kiseline i nestabilnost te reaktivnost same kiseline i njezinog aniona.^{18,74,75} Sundholm⁷⁶ je *ab initio* računima dobio da je hipotiocianatni ion $OSCN^-$ savijene molekulske strukture s molekulskom simetrijom C_s , tj. svi atomi su u istoj ravnini. Modelirana molekulska struktura kiseline HOSCN iz baze molekulskih struktura PubChem⁷⁷ sadrži OSCN savijen na atomu sumpora, a veza O–H gotovo je okomita na ravninu OSCN.

U svojem patentu Perroto i sur.⁷⁸ obznani su da je enzimskim putem proizveden natrijev hipotiocianat ($NaOSCN$). Zbog svoje nestabilnosti potrebno ga je čuvati u duboko zamrznutoj vodenoj otopini alkohola na –30 °C ili još na nižim temperaturama.

U literaturi nisu poznati prirodni izvori hipotiocianske kiseline i aniona. Međutim HOSCN i $OSCN^-$ otkriveni su u sisavcima^{70,79,80} i drugim kralješnjacima⁸¹ te u nekim beskralješnjacima⁸² kao prirodni antimikrobni mehanizam zaštite.

Proces biosinteze hipotiocianata i hipotiocianske kiseline u ljudskom organizmu počiva na aktivnosti humanih peroksidaza od kojih se ističu laktoperoksidaza i mijeloperoksidaza.^{83,84}

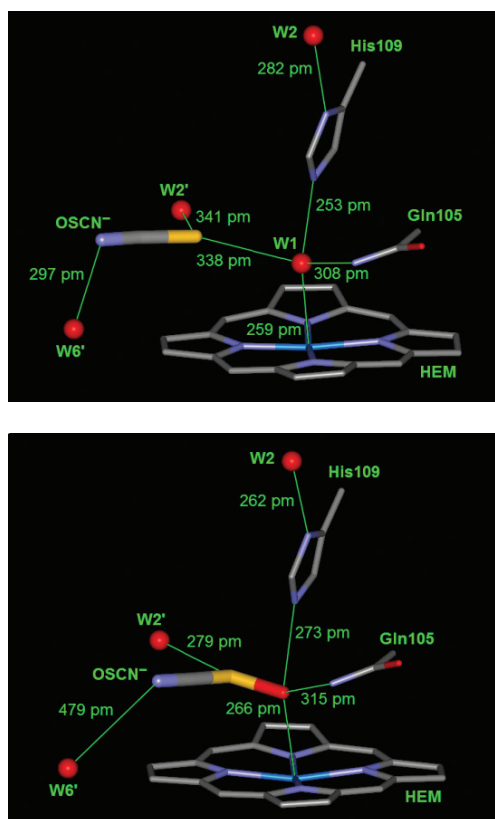
Laktoperoksidaza^{70,79,83–86} (LPO, EC 1.11.1.7) je hemoprotein i glikoprotein, koji se prirodno nalazi u mlijeku, suzama, slini i mnogim drugim ljudskim i životinjskim izlučevinama. Spada u porodicu hemoproteinskih peroksidaza u sisavcima, čiji su ostali članovi mijeloperoksidaza (MPO, EC 1.11.2.2), eozinofil-peroksidaza (EPO, EC 1.11.1.7) i tiroidna peroksidaza (TPO, EC 1.11.1.8). Svi ti enzimi oksidiraju supstrat vodikovim peroksidom (LPO i MPO tiocianat u hipotiocianat, EPO klorid u hipoklorit i TPO dva jodi da u elementarni jod). LPO je ključna komponenta sustava laktoperoksidaza-tiocianat-vodikov peroksid (LPS),^{79,84,85,87} koji normalno djeluje kada su sve tri sastavnice prisutne u prikladnim koncentracijama.⁸⁷ Tiocianat se normalno nalazi u mlijeku, dok je H_2O_2 pak prisutan u mlijeku kao egzogeni izvor ili kao produkt djelovanja laktobacila.^{84,87} Poznata je činjenica da je LPS aktivan protiv širokog spektra mikroorganizama kao što su *Streptococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Campylobacter spp.*, *Pseudomonas spp.* i drugi patogeni mikrobi.^{85,86} Djelovanje sustava LPS zasniva se na idućoj jednadžbi:⁸⁵



U prvom stupnju reakcije H_2O_2 reagira s hemom, kofaktorom enzima, pri čemu se kida veza kisik–kisik i nastaju H_2O i oksidirani oblik hema. U drugom stupnju, tako aktivirani LPS reagira s SCN^- pri čemu nastaju $OSCN^-$ i deaktivirani enzim. Taj stupanj se može slikovito predložiti pomoću dvije strukture iz baze proteinskih podataka Protein Data Bank (slika 1), kompleksa LPS i supstrata SCN^- (PDB: 3ERH⁸⁸) i kompleksa LPS i produkta SCN^- (PDB: 3BXI⁸⁴) prikazanih na aktivnom mjestu enzima pomoću molekulske grafike⁸⁹ (hem je prikazan pojednostavljeno porfirin-skim prstenom, a derivat hipotiocianata $O=S(H)CH_2NH_2$ zamijenjen je teoretskom strukturom hipotiocianatnog aniona⁹⁰ izračunom odgovarajućih koordinata⁹¹). Aktivno mjesto sadrži i niz molekula vode (W), koje imaju bitnu ulogu u oblikovanju aktivnog mjesta vodikovim vezama i u njegovoj funkciji.⁹²

Antibakterijska aktivnost LPS može se objasniti oksidacijom aniona SCN^- u reaktivni hipotiocianatni ion $OSCN^-$, koji oksidira sulfhidrilnu –SH skupinu mikrobnih enzima u –SSCN, pri čemu nastaju sulfenil-tiocianatni derivati enzima.^{70,87} Te promjene inhibiraju bakterijsku glikolizu (inhibicija četiriju enzima: heksokinaze HK, EC 2.7.1.1; glukoza-6-fosfat-dehidrogenaze G6PD, EC 1.1.1.49; gliceraldehid-3-fosfat-dehidrogenaze G3PDH, EC 1.2.1.12; i fruktoza-bisfosfat-aldolaze ALDO, EC 4.1.2.13) te respiraciju i transport glukoze i drugih spojeva (uslijed modifikacije membranskih proteina).^{79,93}

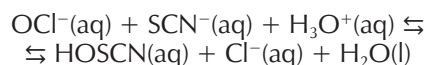
Dva su glavna obrambena sustava peroksidaze u slini čovjeka, a to su salivarna peroksidaza (SPO, EC 1.11.1.7) i mijeloperoksidaza (MPO).^{79,94,95} SPO je strukturno i katalitički slična laktoperoksidazi.⁹⁶ *In vivo*, SPO kao i LPO uglavnom upotrebljavaju pseudohalogenid SCN^- kao supstrat za proizvodnju OSCN^- .



Slika 1 – Prikaz oksidacije tiocianata na aktivnom mjestu laktoperoksidaze. Gore: reaktant tiocianat u reakciji s aktiviranim enzimom (PDB: 3ERH). Dolje: produkt hipotiocianat nakon reakcije (PDB: 3BXI)

Fig. 1 – Representation of the oxidation of thiocyanate at the active site of lactoperoxidase. Up: the reactant thiocyanate in reaction with the activated enzyme (PDB: 3ERH). Down: product hypothiocyanate after the reaction (PDB: 3BXI)

Salivarnu peroksidazu izlučuju dvije velike žlijezde slinovnice, parotidna i submandibularna žlijezda dok mijeloperoksidaza čini ofenzivni mehanizam neutrofilnih granulocita, a prisutna je i u mlijeku kao i laktoperoksidaza.^{79,94,97} Procjenjuje se da se oko 75 % aktivnosti peroksidaze u slini može pripisati mijeloperoksidazi, a ostatak pripada salivarnoj peroksidazi.⁹⁶ U slini SPO katalizira reakciju između H_2O_2 (produkt metabolizma oralnih bakterija) i tiocianata.^{94–99} U probavnom sustavu djeluje sličan enzim, gastična peroksidaza (GPO, EC 1.11.1.7),⁷⁰ koji katalizira istu reakciju. Glavni proizvodi te reakcije su hipotiocianska kiselina i hipotiocianat koji blokiraju sulfhidrilne skupine bakterijskih enzima glikolize. Alternativno, HOSCN može nastati neenzimskim putem u reakciji OCl^- iz hipokloraste kiseline (HOCl) sa SCN^- :⁹⁶



Nastala HOSCN ima antimikrobno djelovanje prema oralnim bakterijama. Oksidacijom klorida sustavom mijeloperoksidaza-tiocianat- H_2O_2 dobiva se već spomenuta hipoklorasta te hipotiocianska kiselina.^{94–96} Anion OCl^- također ima izražena baktericidna svojstva, a može reagirati i s drugim malim molekulama te tako nastaju sekundarna antimikrobna sredstva (primjerice, OCl^- u reakciji s aminom daje citotoksični kloramin).⁹⁶

Dekompozicija HOSCN i OSCN^- se zbiva kod fiziološkog pH u rasponu od 4 do 7, rezultat čega su jednostavni anorganski anioni CN^- , OCN^- , SCN^- , SO_3^{2-} i SO_4^{2-} i razne reaktivne sumporove vrste.^{74,100}

HOSCN je moćno mikrobicidno sredstvo koje ubija ili sprječava rast patogena:^{70,79,80,85,86,101,102} raznih bakterija (uključujući i *Helicobacter pylori*), virusa koji se prenose oralnim putem (herpes simplex 1, respiratorni sincicijski virus, echovirus tip 11, HIV), nekih gljivica (primjerice, *Candida albicans*) i parazita (npr. *Toxoplasma gondii*). Natrijeva sol hipotiocianske kiseline, dobivena liofilizacijom, također ima terapijski potencijal u liječenju infekcija dišnih puteva te služi u produljenju održivosti hrane.⁷⁸ Neke rizične skupine, primjerice vegetarijanci,¹⁰³ oboljeli od cistične fibroze¹⁰⁴ i pretla djeca školske dobi,¹⁰⁵ imaju bitno sniženu koncentraciju hipotiocianata u slini i drugim tjelesnim izlučevinama, što povećava mogućnost infekcija spomenutim patogenima.

4. Međuprodukti raspada hipotiocianske kiseline, endogena antimikrobna zaštita – $\text{S}(\text{CN})_2$, $(\text{SCN})_2$, $(\text{SCN})_3^-$, HO_2SCN , O_2SCN^- , HO_3SCN i O_3SCN^-

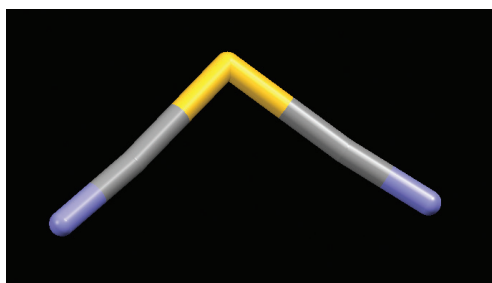
Ashby¹⁸ navodi sedam reaktivnih sumporovih vrsta sa svojstvima pseudohalogeni, koji nastaju raspadom hipotiocianske kiseline i hipotiocianata u ljudskom organizmu: cianotiocianat $\text{S}(\text{CN})_2$, bis[(cianido-C)sumpor](S–S) ili tiocianogen $(\text{SCN})_2$, 1,2,3-tricianotrisulfidni(1–) (tritiocianatni) anion $(\text{SCN})_3^-$, (cianido-C)sulfinska kiselina HO_2SCN i njen anion O_2SCN^- , (cianido-C)sulfonska kiselina HO_3SCN i pripadni anion O_3SCN^- . Osnovni podatci o neutralnim vrstama i $(\text{SCN})_3^-$ anionu prikazani su u tablici 1: strukturni podatci,^{18,106–108} osnovna fizička svojstva,^{18,58,109–111} nastanak^{18,59,74,112–114} i biološka svojstva u ljudskom tijelu.^{18,71,72,74,112,115} Vrste su nestabilne i međusobnom pretvorbom i daljnjim raspadom prelaze u konačne produkte raspada hipotiocianata.

Molekulska struktura cianotiocianata je u potpunosti poznata¹⁰⁶ (prikazana na slici 2 pomoću molekulske grafike¹¹⁶). Struktura $(\text{SCN})_2$ može se predvidjeti iz strukture selenovog analoga $(\text{SeCN})_2$ ¹¹⁷ (struktura vizualizirana molekulskom grafikom⁸⁹ na slici 3). U literaturi je poznat prijedlog strukture aniona $(\text{SCN})_3^-$ u kojoj tiocianatne skupine ne leže u ravnini (slika 4).¹⁰⁷ Molekulske strukture kiseline HO_2SCN i HO_3SCN te pripadnih aniona nisu poznate: iz strukturnih formula vidljivo je da se ciano skupina –CN veže za sulfo – SO_3H ili sulfino – SO_2H skupinu (tablica 1).

Tablica 1 – Međuprodukti raspada hipotiocianske kiseline

Table 1 – Intermediates of decomposition of hypothiocyanic acid

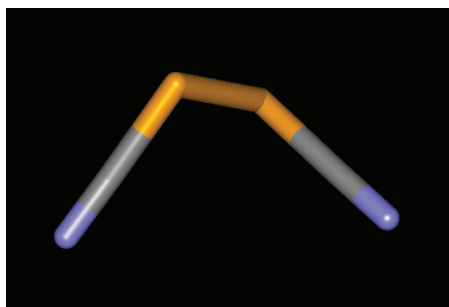
Reaktivna vrsta Reactive species	$S(CN)_2$	$(SCN)_2$	$(SCN)_3^-$	HO_2SCN	HO_3SCN
CAS	627-52-1	505-14-6	–	26020-12-2	26020-13-3
M_r	84,10	116,17	174,25	91,08	107,09
strukturna formula structural formula	$NC-S-CN$	$NC-S-S-CN$	$NCS-S(CN)-SCN$	$HO-S(O)-CN$	$HO-S(O)_2-CN$
molekulska struktura molecular structure	poznata known	poznata za Se analog known for Se analogue	poznata za Se analog known for Se analogue	nepoznata unknown	nepoznata unknown
poznat u čistom stanju known in pure form	da (talište 65 °C) yes (boiling point 65 °C)	da (talište –2 °C) yes (boiling point –2 °C)	ne no	ne no	ne no
nastajanje formation	$HOSCN + CN^-$	$HOSCN + SCN^-$	$(SCN)_2 + SCN^-$	$HOSCN + HOSCN / H_2O_2$	$HO_2SCN + HOSCN$
uloga u ljudskom tijelu	antibakterijsko djelovanje poznatog mekhanizma	antibakterijsko djelovanje poznatog mekhanizma	antibakterijsko djelovanje nepoznatog mekhanizma	međuprodukt raspada $HOSCN$	međuprodukt raspada $HOSCN$
role in human body	antibacterial activity with known mechanism	antibacterial activity with known mechanism	antibacterial activity with unknown mechanism	intermediate of $HOSCN$ decomposition	intermediate of $HOSCN$ decomposition



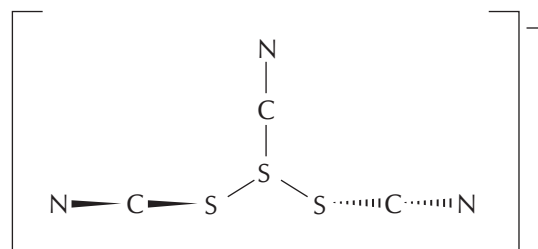
Slika 2 – Prikaz strukture cianotiocianata

Fig. 2 – Representation of the structure of cyano thiocyanate

Savijena molekulska struktura cianotiocianata opisuje se sljedećim parametrima:¹⁰⁶ veze C–S su duljine 170 pm, a veze C≡N 116 pm, dok kut C–S–C iznosi 98°, a kutevi N≡C–S nisu idealno ispruženi (iznose 175°). $(SCN)_2$ je planarna molekula sa slabom savijenom skupinom –SCN.

Slika 3 – Prikaz strukture $Se(CN)_2$ Fig. 3 – Representation of the structure of $Se(CN)_2$

Primjenom jedn. (1) i (2) na molekulsku strukturu $S(CN)_2$ uočava se da je C–N veza bliska trostrukoj ($n(C-N) = 2,9$) a veza C–S parcijalno je dvostrukog karaktera ($n(C-S) = 1,3$). Drugim riječima, skupina –SCN cianotiocianata je po delokalizaciji elektrona vrlo slična skupini –SCN tiocianske kiseline. Slična, ponešto oslabljena delokalizacija zbog jednostrukih veza S–S može se očekivati u srodnim vrstama $(SCN)_2$ i $(SCN)_3^-$.

Slika 4 – Strukturna formula aniona $(SCN)_3^-$ Fig. 4 – Structural formula of the $(SCN)_3^-$ anion

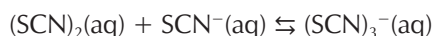
$S(CN)_2$, $(SCN)_2$ i $(SCN)_3^-$ poznati su nusprodukti elektro-kemijske oksidacije tiocianata u cianid u rudarskoj industriji zlata i srebra.^{118,119} Već je od 1909. godine poznato da duhanski dim sadrži $(SCN)_2$.⁵⁹ Prirodni ili antropogeni izvori kiseline HO_2SCN i HO_3SCN nisu poznati.

$S(CN)_2$ nastaje u ljudskom organizmu u značajnim količinama u usnoj šupljini i u plućima, neenzimskom reakcijom kiseline $HOSCN$ i aniona CN^- .^{18,112} Radi se o brzom detoksikaciji cianida, koja dopunjuje enzimski potpomognuto uklanjanje cianida pomoću tiosulfata. Nastali $S(CN)_2$ prilič-

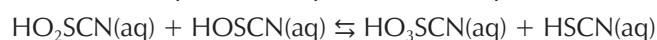
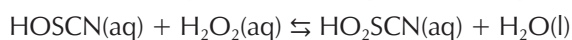
no je stabilan kod fiziološkog pH i zato sporo hidrolizira u cianat OCN^- i tiocianat SCN^- .

Endogeni $(\text{SCN})_2$ nastaje reakcijom HOSCN i SCN^- u tjelesnim tekućinama koje sadrže HOSCN i OSCN^- .^{18,74} Nastali $(\text{SCN})_2$, prije nego li bi se hidrolitički raspao u HOSCN i SCN^- , reagira s tiocianatom i s hipotiocianatom bez posredstva enzima.^{18,74} Nastaju SO_3^{2-} , SO_4^{2-} , CN^- , OCN^- , $(\text{SCN})_3^-$ i razni reaktivni međuprodukti.

Anion $(\text{SCN})_3^-$ nastaje jednostavnom reakcijom $(\text{SCN})_2$ i tiocianata u suvišku.^{18,113}



Međutim kiseline HO_2SCN i HO_3SCN nastaju složenijim reakcijama:^{18,59,114}



HO_3SCN hidrolizira u konačne produkte raspada hipotiocianske kiseline i hipotiocianata. HO_2SCN je umjereno jaka kiselina u biološkim sustavima, u vrlo malim količinama prisutna kao nedisocirana u ravnoteži s anionom O_2SCN^- . Točna vrijednost pK_a je nepoznata. Najvjerojatnije je malena, jer sulfinske kiseline imaju pK_a u rasponu 0,5 – 3.¹²⁰ HO_3SCN je jaka kiselina s negativnom vrijednošću pK_a , što znači da se nalazi u biološkim sustavima isključivo u obliku aniona O_2SCN^- . Sulfonske kiseline u kojima je skupina $-\text{SO}_3\text{H}$ vezana za elektron akceptorske radikale imaju negativne vrijednosti pK_a .¹²¹

$\text{S}(\text{CN})_2$ u ljudskom organizmu ima antibakterijsku funkciju.¹¹² Električki neutralan $\text{S}(\text{CN})_2$ lako prodiru kroz bakterijske membrane i potom inhibira tri enzima glikolize (HK, G6PD i ALDO), te oksidira glutation GSH u glutation persulfid GSSG.^{18,112}

$(\text{SCN})_2$ je ključan međuprodukt raspada hipotiocianata u ljudskom organizmu. Ubrzava raspad hipotiocianske kiseline i hipotiocianata u reaktivne međuprodukte koji djeluju antibakterijski.^{18,113} Zatim, ima značajno antibakterijsko djelovanje jer kemijski reagira s tiolima ($-\text{SH}$ se prevodi u $-\text{SSCN}$ i hidrolizom u $-\text{SOH}$ u cisteinu, glutationu i drugim tiolima)^{71,115} i s aromatskim aminokiselinama (aromatski $-\text{H}$ zamjenjuje se sa $-\text{SCN}$ u triptofanu, tirozinu i histidinu).¹⁸ Također hidrolizira u HOSCN i SCN^- u unutrašnjosti bakterijske stanice, gdje te vrste tada reagiraju s tiolima.^{71,72} Prepostavlja se da se peroksidaze, enzimi koji oksidiraju tiocianat u hipotiocianat, vežu na vanjsku membranu bakterijske stanice i oslobađaju oksidanse koji su nastali iz tiocianata.¹⁸ Te reaktivne vrste lako prodiru kroz nepolarne medije membrana jer su hidrofozne, te pronalaze svoje mete u bakterijskoj stanici.

Endogeni $(\text{SCN})_3^-$ anion predstavlja važnu reaktivnu sumporovu vrstu s antibakterijskim djelovanjem za sada nepoznatog mehanizma.¹¹³ HO_2SCN i HO_3SCN te njihovi anioni raspadaju se u ljudskom tijelu na jednostavne anione, od kojih tiocianat ima antimikrobnu aktivnost,^{70,96} dok za neke (CN^- i OCN^-) nije izvjesno da djeluju protiv patogena.⁹⁹

6. Zaključak

Endogeni anorganski tiocianati u ljudskom organizmu čine skupinu spojeva koji se izvode iz tiocianatnog aniona SCN^- , koji nastaje detoksikacijom endogenih ili egzogenih cianida, djelovanjem endogene bakterijske flore, metabolizmom cianogene hrane ili industrijskom intoksikacijom. Endogeni tiocianati nastaju enzimskim ili neenzimskim reakcijama u stanicama ili izvanstaničnom prostoru. Prema strukturi su ionski spojevi najzastupljenijih metalnih kationa u organizmu (Na^+ , K^+ , Ca^{2+} i Mg^{2+}) s anionima koji sadrže jednu ili tri skupine $-\text{SCN}$, ili su molekulski spojevi s jednom ili dvije skupine $-\text{SCN}$. Razlikuju se prema broju atoma kisika koji se vežu za atom sumpora (od 0 do 3 atoma). Od posebne važnosti su anionske i molekulske vrste, koje predstavljaju važne reaktivne sumporove vrste u ljudskom organizmu: tiocianska i izotocianska kiselina i zajednički anion tiocianat, hipotocianska kiselina i hipotiocianat, cianotiocianat, bis[(cianido-C)sumpor](S-S), 1,2,3-tricianotrisulfid(1-), (cianido-C)sulfinska kiselina i njezin anion, te (cianido-C)sulfonska kiselina i njezin anion. Koncentracije im se kreću od milimolarnih (tiocianat) do nanomolarnih redova veličina (nedisocirane kiseline) te bitno ovise o pH tjelesne tekućine, kao i o konstantama ravnoteže reakcija u kojima nastaju i nestaju.

Anorganska svojstva svih spomenutih vrsta očituju se reakcijama pseudohalogenata, gdje skupina $-\text{SCN}$ oponaša atom halogenog elementa (klora, broma ili joda). Stabilnost vrsta uvelike ovisi o molekulskoj strukturi: jača delokalizacija elektrona osobina je stabilnog tiocianata i njegovih kiselina, a oslabljena je prisutna u drugim vrstama koje su podložne raspadu i pretvorbama. Međutim sve vrste su u ljudskom organizmu kemijski reaktivne ili se raspadaju na reaktivne vrste, što ih čini odličnom prirodnom zaštitom od intoksikacije cianidom i djelovanja patogenih mikroba. Naime, tiocianat i cianotiocianat sudjeluju u detoksikaciji cianida iz različitih izvora (pušenje, industrijski dimovi, crijevne bakterije i dr.), a tiocianat i sve druge vrste djeluju mikrobicidno i mikrobiostatski na razne bakterije, na neke viruse, gljivice i parazite. Može se očekivati da će im djelovanja na molekulskoj razini biti razjašnjena u bliskoj budućnosti. Anorganski tiocianati su u ljudskom tijelu metabolički povezani s anorganskim okso spojevima sumpora putem detoksikacije cianida tiosulfatom te konačnog raspada hipotiocianata na sulfat i sulfat.

Popis kratica i simbola

List of abbreviations and symbols

ALDO	– fruktoza-bisfosfat-aldolaza – fructose biphosphate aldolase
ampi	– 1-(2-aminoetil)pirolidin – 1-(2-aminoethyl)pyrrolidine
B ₁	– vitamin tiamin – vitamin thiamine
B ₇	– vitamin biotin – vitamin biotin
CoA	– acetil koenzim A – acetyl coenzyme A

C _s	– molekulska simetrija koja ima jednu ravninu simetrije – molecular symmetry with a plane of symmetry
d(C–S)	– duljina veze ugljik-sumpor – carbon-sulphur bond length
d(C–N)	– duljina veze ugljik-dušik – carbon-nitrogen bond length
E	– enzim – enzyme
EPO	– eozinofil-peroksidaza – eosinophil peroxidase
E–S	– aktivirani kompleks enzim-supstrat – activated complex enzyme-substrate
E–S–SO ₃ ^{2–}	– kompleks enzim-supstrat-sulfit – complex enzyme-substrate-sulphite
E–S–C–N [–]	– kompleks enzim-supstrat-cianid – complex enzyme-substrate-cyanide
G3PDH	– gliceraldehid-3-fosfat-dehidrogenaza – glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase
G6PD	– glukoza-6-fosfat-dehidrogenaza – glucose-6-phosphate dehydrogenase
GPO	– гастриčna peroksidaza – gastric peroxidase
GSH	– glutation – glutathione
GSSG	– glutation persulfid – glutathione persulphide
HIV	– virus humane imunodeficijencije – human immunodeficiency virus
HK	– heksokinaza – hexokinase
LPO	– laktoperoksidaza – lactoperoxidase
LPS	– sustav laktoperoksidaza-tiocianat-vodikov peroksid – lactoperoxidase-thiocyanate-hydrogen peroxide system
MPO	– mijeloperoksidaza – myeloperoxidase
3MST	– 3-merkaptopiruvat-sumpor-transferaza – 3-mercaptopyruvate sulphurtransferase
n(C–S)	– red veze ugljik-sumpor – carbon-sulphur bond order
n(C–N)	– red veze ugljik-dušik – carbon-nitrogen bond order
NIS	– natrij/jodid simporter – sodium/iodide symporter
PDB	– proteinska baza podataka – Protein Data Bank
R	– radikal – radical
Rhod	– rodanaza, tiosulfat-cianid-sumpor-transferaza – rhodanese, thiosulfate:cyanide sulphurtransferase
SPO	– salivarna peroksidaza – salivary peroxidase
TPO	– tiroidna peroksidaza – thyroid peroxidase
W	– molekula vode (u proteinu) – water molecule (within a protein)

Literatura References

1. URL: <http://www.enciklopedija.hr/natuknica.aspx-?ID=58761> (27. 5. 2017.)
2. D. E. Canfield, Biogeochemistry of sulfur isotopes, Rev. Mineral. Geochem. **43** (2001) 607–636, doi: <https://doi.org/10.2138/gsrmg.43.1.607>.
3. J. Emsley, Vodič kroz elemente, Izvori, Zagreb 2005.
4. Lj. Kovačević, I. Žugaj, Kemijski elementi, Media Sci, Zagreb 1996.
5. URL: <http://www.pse.pbf.hr/hrvatski/elementi/s/index.html#OPCENITO> (27. 5. 2017.)
6. I. Filipović, S. Lipanović, Opća i anorganska kemija II dio, Školska knjiga, Zagreb 1991.
7. M. E. Nimni, B. Han, F. Cordoba, Are we getting enough sulfur in our diet?, Nutr. Metab. (Lond.) **4** (2007) 24 (12 str.), doi: <https://doi.org/10.1186/1743-7075-4-24>.
8. Dossiê: os minerais na alimentação, Food Ingredients Brasil (4) (2008) 48–65.
9. Lj. Išgum Vorgić, Medicinska biokemija, Medicinska naklada, Zagreb, 2006.
10. C. R. Robbins, Chemical and physical behavior of human hair, Springer, Berlin, 2012.
11. Abeceda vitamina i minerala, Dušević & Kršovnik, Rijeka 2007.
12. URL: <http://www.healthy.net/scr/article.aspx?ID=2066> (27. 5. 2017.)
13. U. Momčilović, Značenje proteina, vitamina i mikroelemenata u cijeljenju rane, Medix **9** (51) (2003) 66–70.
14. S. Parcell, Sulfur in human nutrition and applications in medicine, Altern. Med. Rev. **7** (2002) 22–44.
15. S. Stanković, R. Kiralj, Anorganski spojevi sumpora u ljudskom tijelu. I. Okso-spojevi, Kem. Ind. **66** (2017) 617–631, doi: <https://doi.org/10.15255/KUI.2016.048>.
16. URL: <http://www.organic-chemistry.org/synthesis/C1S/thiocyanates.shtm> (23. 5. 2017.)
17. H. E. Williams, The chemistry of cyanogen compounds and their manufacture and estimation, J. & A. Churchill, London, 1915.
18. M. T. Ashby, Hypothiocyanite, u R. van Eldik, I. Ivanović-Burmazović (ur.), Advances in inorganic chemistry volume 64, Academic Press, London, 2012, str. 264–304.
19. URL: <http://proleksis.lzmk.hr/1399/> (27. 5. 2017.)
20. W. M. Haynes (ur.), CRC Handbook of Chemistry and Physics 95th Ed. 2014-2015, CRC Press, Boca Raton, FL, 2014.
21. URL: <http://www.enciklopedija.hr/natuknica.aspx-?ID=61391> (27. 5. 2017.)
22. URL: <http://www.enciklopedija.hr/natuknica.aspx-?id=53133> (27. 5. 2017.)
23. G. A. Tanner, Acid-Base Balance, u R. A. Rhoades, G. A. Tanner (ur.), Medical physiology 2nd Ed., Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, PA, 1994, str. 426–477.
24. D. J. Aframian, T. Davidowitz, R. Benoliel, The distribution of oral mucosal pH values in healthy saliva secretors, Oral Dis. **12** (2006) 420–423, doi: <https://doi.org/10.1111/j.1601-0825.2005.01217.x>.
25. A. E. Beasley, A. M. Koltz, J. E. Lambert, N. Fierer, R. R. Dunn, The evolution of stomach acidity and its relevance to the human microbiome, PLoS One **10** (7) (2015) e0134116 (12

- str.), doi: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0134116>.
26. Y. Chiang, A. J. Kresge, Determination of the acidity constant of isothiocyanic acid in aqueous solution, *Can. J. Chem.* **78** (2000) 1627–1628, doi: <https://doi.org/10.1139/v00-152>.
27. T. M. Kitson, Thiocyanate and isothiocyanate, *Biochem. Educ.* **32** (1985) 85, doi: [https://doi.org/10.1016/0307-4412\(85\)90021-4](https://doi.org/10.1016/0307-4412(85)90021-4).
28. URL: http://it-app.dziv.hr/Slike/Pat_dok/T_opis/20140545_T1.pdf (27. 5. 2017.)
29. G. R. Adande, D. T. Halfen, L. M. Ziurys, D. Quan, E. Herbst, Observations of the [HNCS]/[HSCN] ratio in Sgr B2 and TMC-1: evidence for low-temperature gas-phase chemistry, *Astrophys. J.* **725** (2010) 561–570, doi: <https://doi.org/10.1088/0004-637X/725/1/561>.
30. G. C. I. Beard, B. P. Dailey, E. Herbst, The structure and dipole moment of isothiocyanic acid, *J. Chem. Phys.* **18** (1950) 1437, doi: <https://doi.org/10.1063/1.1747507>.
31. P. Schönfeld, L. Montero, J. Fabian, A combined experimental and quantum chemical study on the putative protonophoric activity of thiocyanate, *Biophys. J.* **89** (2005) 1504–1515, doi: <https://doi.org/10.1007/10.1529/biophysj.105.059006>.
32. B. A. McGuire, M.-A. Martin-Drumel, S. Thorwirth, S. Brünken, V. Lattanzi, J. L. Neill, S. Spezzano, Z. Yu, D. P. Zaleski, A. J. Remijan, B. H. Patee, M. C. McCarthy, Molecular polymorphism: microwave spectra, equilibrium structures, and an astronomical investigation of the HNCS isomeric family, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **18** (2016) 22693–22705, doi: <https://doi.org/10.1039/C6CP03871A>.
33. URL: http://www.ilo.org/dyn/icsc/showcard.display?p_version=2&p_card_id=1671 (5. 3. 2018.)
34. A. F. Holleman, E. Wiberg, N. Wiberg, *Inorganic chemistry*, Academic Press, San Diego, CA, 2001, str. 503–572.
35. J. R. Durig, C. Zheng, H. Deeb, On the structural parameters and vibrational spectra of some XNCS and XSCN (X=H, F, Cl, Br) molecules, *J. Mol. Struct.* **784** (2006) 78–92, doi: <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2005.06.034>.
36. A. Prkić, Vježbe iz Analitičke kemije (interna recenzirana skripta), Kemijsko-tehnološki fakultet u Splitu, Zavod za analitičku kemiju, Split, 2014, str. 55.
37. A. A. Bagabas, S. B. Alhoshan, H. A. Ghabbour, C. S. C. Kumar, H.-K. Fun, Crystal structure of cyclohexylammonium thiocyanate, *Acta Cryst. E* **71** (2015) o62–o63, doi: <https://doi.org/10.1107/S2056989014027297>.
38. H. Bouchareb, M. Boudraa, S. Bouacida, H. Meraziga, E. H. Chtoun, Crystal structure of 3-carbamothioylpyridinium thiocyanate, *Acta Cryst. E* **71** (2015) o30–o31, doi: <https://doi.org/10.1107/S2056989014026437>.
39. T. K. Maji, I. R. Laskar, G. Mostafa, A. J. Welch, P. S. Mukherjee, N. R. Chaudhuri, A 1D thiocyanato bridge nickel(II) system: crystal structure and magnetic property, *Polyhedron* **20** (2001) 651–655, doi: [https://doi.org/10.1016/S0277-5387\(01\)00729-X](https://doi.org/10.1016/S0277-5387(01)00729-X).
40. L. C. Ferreira, C. A. L. Filgueiras, L. C. Visentin, J. Bordinhão, M. Hörner, One-pot preparation, spectroscopic and structural characterization of mercury(II) complexes of bulky diimines with halides and pseudohalides, *Z. Anorg. Chem.* **634** (2008) 1896–1900, doi: <https://doi.org/10.1002/zaac.200800220>.
41. R. J. Gillespie, E. A. Robinson, The sulphur-oxygen bond in sulphuryl and thionyl compounds: correlation of stretching frequencies and force constants with bond lengths, bond angles, and bond orders, *Can. J. Chem.* **41** (1963) 2074–2085, doi: <https://doi.org/10.1139/v63-299>.
42. J. Zúñiga, A. Bastida, A. Requena, E. L. Sibert III, A theoretical study of the vibrational spectrum of the CS₂ molecule, *J. Chem. Phys.* **116** (2002) 7495–7508, doi: <https://doi.org/10.1063/1.1465413>.
43. I. W. May, E. L. Pace, The vibrational spectra of methanethiol, *Spectrochim. Acta A* **24** (1968) 1605–1615, doi: [https://doi.org/10.1016/0584-8539\(68\)80209-0](https://doi.org/10.1016/0584-8539(68)80209-0).
44. M. K. Nayak, R. K. Chaudhuri, S. N. L. G. Krishnamachari, Theoretical study on the excited states of HCN, *J. Chem. Phys.* **122** (2005) 184323 (4 str.), doi: <https://doi.org/10.1063/1.1895669>.
45. Y. Cornaton, M. Ringholm, O. Louant, K. Ruud, Analytic calculations of anharmonic infrared and Raman vibrational spectra, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **18** (2016) 4201–4215, doi: <https://doi.org/10.1039/C5CP06657C>.
46. M. D. Harmony, V. W. Laurie, R. L. Kuczkowski, R. H. Schwendeman, D. A. Ramsay, F. J. Lovas, W. J. Lafferty, A. G. Maki, Molecular structures of gas-phase polyatomic molecules determined by spectroscopic methods, *J. Phys. Chem. Ref. Data* **8** (1979) 619–721, doi: <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2005.09.010>.
47. S. Breda, I. D. Reva, L. Lapinski, M. J. Nowak, R. Fausto, Infrared spectra of pyrazine, pyrimidine and pyridazine in solid argon, *J. Mol. Struct.* **786** (2006) 193–206, doi: <https://doi.org/10.1063/1.555605>.
48. Z.-D. Sun, S.-D. Qi, R. M. Lees, L.-H. Xu, Lamb-dip spectroscopy of the C–N stretching band of methylamine by using frequency-tunable microwave sidebands of CO₂ laser lines, *Sci. Rep.* **6** (2016) 34270 (12 str.), doi: <https://doi.org/10.1038/srep34270>.
49. URL: <http://goldbook.iupac.org/html/D/D01583.html> (28. 05. 2017.)
50. W. D. Gould, M. King, B. R. Mohapatra, R. A. Cameron, A. Kapoor, D. W. Koren, A critical review on destruction of thiocyanate in mining effluents, *Miner. Eng.* **34** (2012) 38–47, doi: <https://doi.org/10.1016/j.mineng.2012.04.009>.
51. C. Fimognari, E. Turrini, L. Ferruzzi, M. Lenzi, P. Hrelia, Natural isothiocyanates: Genotoxic potential versus chemoprevention, *Mutat. Res.* **750** (2012) 107–131, doi: <https://doi.org/10.1016/j.mrrev.2011.12.001>.
52. A. T. Dinkova-Kostova, R. V. Kostov, Glucosinolates and isothiocyanates in health and disease, *Trends. Mol. Med.* **18** (2012) 337–347, doi: <https://doi.org/10.1016/j.molmed.2012.04.003>.
53. URL: <http://www.vasezdravlje.com/izdanje/clanak/2378/> (28.05.2017.)
54. L. Wu, Z. Wang, S. Zong, Y. Cui, Rapid and reproducible analysis of thiocyanate in real human serum and saliva using a droplet SERS-microfluidic chip, *Biosens. Bioelectron.* **62** (2014) 13–18, doi: <https://doi.org/10.1016/j.bios.2014.06.026>.
55. B. D. Paul, M. L. Smith, Cyanide and thiocyanate in human saliva by gas chromatography-mass spectrometry, *J. Anal. Toxicol.* **30** (2006) 511–515, doi: <https://doi.org/10.1093/jat/30.8.511>.
56. B. A. Logue, D. M. Hinkens, S. I. Baskin, G. A. Rockwood, The analysis of cyanide and its breakdown products in biological samples, *Crit. Rev. Anal. Chem.* **40** (2010) 122–147, doi: <https://doi.org/10.1080/10408340903535315>.
57. K. Tsuge, M. Kataoka, Y. Seto, Cyanide and thiocyanate levels in blood and saliva of healthy adult volunteers, *J. Health Sci.* **46** (2000) 343–350, doi: <https://doi.org/10.1248/jhs.46.343>.
58. K. Emerson, The crystal and molecular structure of sulfur dicyanide, *Acta Cryst.* **21** (1966) 970–974, doi: <https://doi.org/10.1107/S0365110X66004262>.
59. A. Rodgman, T. A. Perfetti, The chemical components identified in tobacco and tobacco smoke prior to 1954: a chronol-

- ogy of classical chemistry, Beitr. Tabakforsch. Int. **23** (2009) 277–333, doi: <https://doi.org/10.2478/cttr-2013-0866>.
60. S. L. Youso, G. A. Rockwood, B. A. Logue, The analysis of protein-bound thiocyanate in plasma of smokers and non-smokers as a marker of cyanide exposure, J. Anal. Toxicol. **36** (2012) 265–269, doi: <https://doi.org/10.1093/jat/bks017>.
 61. S. Narkowicz, Ž. Polkowska, M. Marć, V. Simeonov, J. Namieśnik, Determination of thiocyanate (biomarkers of ETS) and other inorganic ions in human nasal discharge samples using ion chromatography, Ecotoxicol. Environ. Saf. **96** (2013) 131–138, doi: <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2013.06.001>.
 62. X. Qin, T. Zhang, Z. Gan, H. Sun, Spatial distribution of perchlorate, iodide and thiocyanate in the aquatic environment of Tianjin, China: Environmental source analysis, Chemosphere **111** (2014) 201–208, doi: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2014.03.082>.
 63. L. Pesce, P. Kopp, Iodide transport: implications for health and disease, Int. J. Pediatr. Endocrinol. **2014** (1) (2014) 8 (12 str.), doi: <https://doi.org/10.1186/1687-9856-2014-8>.
 64. N. A. Mervish, A. Pajak, S. L. Teitelbaum, S. M. Pinney, G. C. Windham, L. H. Kushi, F. M. Biro, L. Valentin-Blasini, B. C. Blount, M. S. Wolff, Thyroid antagonists (perchlorate, thiocyanate, and nitrate) and childhood growth in a longitudinal study of U.S. girls, Environ. Health Perspect. **124** (2016) 542–549, doi: <https://doi.org/10.1289/ehp.1409309>.
 65. A. Bivolarska, P. Gatseva, V. Atanasova, S. Kalev, B. Tchervenkov, Urinary iodine and thiocyanate concentration in Bulgarian young mothers, Trakia J. Sci. **12** (Supl. 1) (2014) 61–64.
 66. V. Radonjić, B. Bošković, A. Pribić, Hitna pomoć kod trovanja cijanovodikom prilikom fumigacije, Arh. hig. rada toksikol. **34** (1983) 239–249.
 67. Y. Saidu, Physicochemical features of rhodanese: A review, Afr. J. Biotechnol. **3** (2004) 370–374, doi: <https://doi.org/10.5897/AJB2004.000-2071>.
 68. C.-M. Park, L. Weerasinghe, J. J. Day, J. M. Fukuto, M. Xian, Persulfides: current knowledge and challenges in chemistry and chemical biology, Mol. Biosyst. **11** (2015) 1775–1785, doi: <https://doi.org/10.1039/c5mb00216h>.
 69. S. Bosak, Istraživanje funkcije gena *slr0192* cijanobakterije *Synechocystis* sp. PCC 6803, Diplomski rad, Prirodoslovno-matematički fakultet u Zagrebu, Biološki odsjek, Zagreb, 2006, str. 14.
 70. J. D. Chandler, B. J. Day, Thiocyanate: a potential useful therapeutic agent with host defense and antioxidant properties, Biochem. Pharmacol. **84** (2012) 1381–1387, doi: <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2012.07.029>.
 71. A. Stein, S. M. Bailey, Redox biology of hydrogen sulfide: Implications for physiology, pathophysiology, and pharmacology, Redox Biol. **1** (2013) 32–39, doi: <https://doi.org/10.1016/j.redox.2012.11.006>.
 72. P. K. Yadav, K. Yamada, T. Chiku, M. Koutmos, R. Banerjee, Structure and kinetic analysis of H₂S production by human mercaptopyruvate sulfurtransferase, J. Biol. Chem. **288** (2013) 20002–20013, doi: <https://doi.org/10.1074/jbc.M113.466177>.
 73. P. Nagy, G. N. L. Jameson, C. C. Winterbourn, Kinetics and mechanisms of the reaction of hypothiocyanous acid with 5-thio-2-nitrobenzoic acid and reduced glutathione, Chem. Res. Toxicol. **22** (2009) 1833–1840, doi: <https://doi.org/10.1021/tx900249d>.
 74. J. Kalmár, K. L. Woldegiorgis, B. Biri, M. T. Ashby, Mechanism of decomposition of the human defense factor hypothiocyanite near physiological pH, J. Am. Chem. Soc. **133** (2011) 19911–19921, doi: <https://doi.org/10.1021/ja2083152>.
 75. J. Krupa, M. Wierzejewska, Structure of isothiocyanic acid dimers. Theoretical and FTIR matrix isolation studies, Chem. Phys. Lett. **652** (2016) 46–49, doi: <https://doi.org/10.1016/j.cplett.2016.04.031>.
 76. D. Sundholm, Ab initio study of nuclear magnetic shieldings and ultraviolet spectra for hypothiocyanite and its isomers. The molecular structure of hypothiocyanite, J. Am. Chem. Soc. **117** (1995) 11523–11528, doi: <https://doi.org/10.1021/ja00151a016>.
 77. URL: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/124985> (28. 05. 2017.)
 78. S. Perrotto (Fleurieux sur l'Arbresle, France), S. Gluszok (Givenchy en Gohelle, France), P. Bordeau (St. Pierre de Chandieu, France), U.S. Pat. Appl. 13/648,365, 11 Apr 2013; US Pat. Appl. Publ. US 2013/0089620 A1.
 79. F. Bafort, O. Parisi, J.-P. Perraudin, M. H. Jijakli, Mode of action of lactoperoxidase as related to its antimicrobial activity: A review, Enzyme Res. **2014** (2014) 517164 (13 str.), doi: <https://doi.org/10.1155/2014/517164>.
 80. E. Seifu, E. M. Buys, E. F. Donkin, Significance of the lactoperoxidase system in the dairy industry and its potential applications: a review, Trends Food Sci. Technol. **16** (2005) 137–154, doi: <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2004.11.002>.
 81. J. D. Lee (United States of America), Internat. Pat. Appl. PCT/US2014/051914, 20 Aug 2014; Internat. Pat. Appl. Publ. WO/2015/026958 (A1).
 82. H. Heuer, L. Heuer, Blowfly strike and maggot therapy: from parasitology to medical treatment, u H. Mehlhorn (ur.), Nature helps... How plants and organisms contribute to solve health problems, Springer-Verlag, Heidelberg, 2011, str. 301–324.
 83. P. G. Furtmüller, M. Zederbauer, W. Jantschko, J. Helm, M. Bogner, C. Jakopitsch, C. Obinger, Active site structure and catalytic mechanisms of human peroxidases, Arch. Biochem. Biophys. **445** (2006) 199–213, doi: <https://doi.org/10.1016/j.abb.2005.09.017>.
 84. A. K. Singh, N. Singh, S. Sharma, K. Shin, M. Takase, P. Kaur, A. Srinivasan, T. P. Singh, Inhibition of lactoperoxidase by its own catalytic product: crystal structure of the hypothiocyanate-inhibited bovine lactoperoxidase at 2.3-Å resolution, Biophys. J. **96** (2009) 646–654, doi: <https://doi.org/10.1016/j.bpj.2008.09.019>.
 85. H. A. Almehdar, E. M. El-Fakharany, V. N. Uversky, E. M. Redwan, Disorder in milk proteins: structure, functional disorder, and biocidal potentials of lactoperoxidase, Current Protein and Peptide Science **16** (2015) 352–365, doi: <https://doi.org/10.2174/1389203716666150316114956>.
 86. M. Lučan, Utjecaj dodatka meda na kinetiku fermentacije i antibakterijska svojstva probiotičkih fermentiranih mlijeka, Doktorska disertacija, Prehrambeno-tehnološki fakultet u Osijeku, Osijek, 2014, str.14.
 87. Z. Mijačević, I. Otenhaj-Mer, D. Ivanović, Antibakterijska aktivnost laktoperoksidaza-tiocijanat vodonikperoksid sistema u mleku, Mljekarstvo **39** (1989) 199–204.
 88. I. A. Sheikh, A. K. Singh, N. Singh, M. Sinha, S. B. Singh, A. Bhushan, P. Kaur, A. Srinivasan, S. Sharma, T. P. Singh, Structural evidence of substrate specificity in mammalian peroxidases. Structure of the thiocyanate complex with lactoperoxidase and its interactions at 2.4 Å resolution, J. Biol. Chem. **284** (2009) 14849–14856, doi: <https://doi.org/10.1074/jbc>.

- M807644200.
89. *ViewerLite 4.2*, Accelrys, Inc., San Diego, CA, 2001.
90. URL: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/124984> (16. 05. 2017.)
91. *Scilab 5.5.0*, Scilab Enterprises S. A. S., Orsay, 2014.
92. S. Sharma, A. K. Singh, S. Kaushik, M. Sinha, R. P. Singh, P. Sharma, H. Sirohi, P. Kaur, T. P. Singh, Lactoperoxidase: structural insights into the function, ligand binding and inhibition, *Int. J. Biochem. Mol. Biol.* **4** (2013) 108–128.
93. Z. Koksai, I. Gulcin, H. Ozdemir, An important milk enzyme: lactoperoxidase, u I. Gigli (ur.), Milk proteins - from structure to biological properties and health aspects, In Tech, Rijeka, 2016, str. 141–156.
94. I. Dožić, T. Todorović, Antimikrobni proteini pljuvačke, *Stom. Glas. S.* **52** (2005) 208–216, doi: <https://doi.org/10.2298/SGS0504208D>.
95. T. Todorović, I. Dožić, B. Mandić, M. Marjanović, Antioksidativna uloga pljuvačke u očuvanju zdravlja usta, *Vojnosanit. Pregl.* **62** (2005) 575–579, doi: <https://doi.org/10.2298/VSP0508575T>.
96. M. T. Ashby, Inorganic chemistry of defensive peroxidases in the human oral cavity, *J. Dent. Res.* **87** (2008) 900–914, doi: <https://doi.org/10.1177/154405910808701003>.
97. V. Vučićević-Boras, B. Topić, A. Cekić-Arambašin, A. Stavljenić-Rukavina, R. Zadro, T. Devčić, Vrijednosti salivarne peroksidaze u nestimuliranoj i stimuliranoj ukupnoj slini studenata stomatologije, *Acta Stomat. Croat.* **35** (2001) 353–356.
98. T. J. Barrett, C. L. Hawkins, Hypothiocyanous acid: benign or deadly?, *Chem. Res. Toxicol.* **20** (2012) 263–273, doi: <https://doi.org/10.1021/tx200219s>.
99. P. del V. de Almeida, A. M. T. Grégio, M. A. N. Machado, A. A. S. de Lima, L. R. Azevedo, *J. Contemp. Dent. Pract.* **9** (3) (2008) 72–80.
100. J. Kalmár, K. L. Woldegiorgis, B. Biri, M. T. Ashby, Mechanism of decomposition of the human defense factor hypothiocyanite tear physiological pH, *J. Am. Chem. Soc.* **133** (2011) 19911–19921, doi: <https://doi.org/10.1021/ja2083152>.
101. T. Tanaka, S. Murakami, H. Kumura, I. Igarashi, K. Shimazaki, Parasitocidal activity of bovine lactoperoxidase against *Toxoplasma gondii*, *Biochem. Cell Biol.* **84** (2006) 774–779, doi: <https://doi.org/10.1139/O06-142>.
102. V. Vučićević-Boras, B. Topić, A. Cekić-Arambašin, A. Stavljenić-Rukavina, R. Zadro, T. Devčić, Vrijednosti salivarne peroksidaze u nestimuliranoj i stimuliranoj ukupnoj slini studenata stomatologije, *Acta Stomatol. Croat.* **35** (2001) 353–356.
103. N. Amirzafari, H. Pourghafar, R. Sariri, Salivary defense system alters in vegetarian, *J. Oral Biol. Craniofac. Res.* **3** (2013) 78–82, doi: <https://doi.org/10.1016/j.jobcr.2013.05.004>.
104. M. Childers, A. Himmel, J. Caldwell, Effects of the lack of thiocyanate in cystic fibrosis lung disease, u P. N. Leatte (ur.), Cystic fibrosis etiology, diagnosis and treatments, Nova Science Publishers, New York, 2009, str. 137–142.
105. E. Pannunzio, O. M. S. Amancio, M. S. S. Vitale, D. N. de Souza, F. M. Mendes, J. Nicolau, Analysis of the stimulated whole saliva in overweight and obese school children, *Rev. Assoc. Med. Bras.* **56** (2010) 32–36, doi: <https://doi.org/10.1590/S0104-42302010000100012>.
106. Z. Kisiel, M. Winnewisser, B. P. Winnewisser, F. C. De Lucia, D. W. Tokaryk, B. E. Billingham, Far-infrared spectrum of $\text{S}(\text{CN})_2$ measured with synchrotron radiation: global analysis of the available high-resolution spectroscopic data. *J. Phys. Chem. A* **117** (2013) 13815–13824, doi: <https://doi.org/10.1021/jp408255m>.
107. J. J. Barnett, D. M. Stanbury, Formation of trithiocyanate in the oxidation of aqueous thiocyanate, *Inorg. Chem.* **41** (2002) 164–166, doi: <https://doi.org/10.1021/ic015597d>.
108. G. A. Bownmaker, P. A. Kilmartin, G. A. Wright, The parathiocyanogen electrode, *J. Solid State Electrochem.* **3** (1999) 163–171, doi: <https://doi.org/10.1007/s100080050143>.
109. J. E. Macintyre (ur.), Dictionary of inorganic compounds (supplement 3, book 8) 3rd Ed., Chapman & Hall, London, 1995.
110. Z. Kisiel, O. Dorosh, M. Winnewisser, M. Behnke, I. R. Medvedev, F. C. De Lucia, Comprehensive analysis of the FASSST rotational spectrum of $\text{S}(\text{CN})_2$, *J. Mol. Spectrosc.* **246** (2007) 39–46, doi: <https://doi.org/10.1016/j.jms.2007.08.002>.
111. P. G. Urben (ur.), Bretherick's handbook of reactive chemical hazards – volume 1, 6th Ed., Butterworth-Heinemann Ltd., Oxford, UK, 1999.
112. K. Lemma, M. T. Ashby, Reactive sulfur species: kinetics and mechanism of the reaction of hypothiocyanous acid with cyanide to give dicyanosulfide in aqueous solution, *Chem. Res. Toxicol.* **22** (2009) 1622–1628, doi: <https://doi.org/10.1021/tx900212r>.
113. C. L. Hawkins, D. I. Pattison, N. R. Stanley, M. J. Davies, Tryptophan residues are targets in hypothiocyanous acid-mediated protein oxidation, *Biochem. J.* **416** (2008) 441–452, doi: <https://doi.org/10.1042/BJ20070941>.
114. J. J. Barnett, J. M. McKee, D. M. Stanbury, Acidic aqueous decomposition of thiocyanogen, *Inorg. Chem.* **43** (2004) 5021–5033, doi: <https://doi.org/10.1021/ic049356s>.
115. E. L. Thomas, T. M. Aune, Lactoperoxidase, peroxide, thiocyanate antimicrobial system: correlation of sulfhydryl oxidation with antimicrobial action, *Infect. Immun.* **20** (1978) 456–463.
116. *Mercury 3.6*, Cambridge Crystallographic Data Centre, Cambridge, UK, 2015.
117. C. J. Burchell, P. Kilian, A. M. Z. Slawin, J. D. Woollins, K. Tersago, C. Van Alsenoy, F. Blockhuys, $\text{E}_2(\text{CN})_2$ ($\text{E} = \text{S}, \text{Se}$) and related compounds, *Inorg. Chem.* **45** (2006) 710–716, doi: <https://doi.org/10.1021/ic0515103>.
118. T. A. Kenova, V. L. Kormienko, S. V. Drozdov, On electrochemical oxidation of thiocyanates in solutions for cyanidation of gold-containing ores and concentrates, *Russian J. Appl. Chem.* **83** (2010) 1589–1592, doi: <https://doi.org/10.1134/S1070427210090156>.
119. J. Li, M. S. Safarzadeh, M. S. Moats, J. D. Miller, K. M. LeVier, M. Dietrich, R. Y. Wan, Thiocyanate hydrometallurgy for the recovery of gold. Part I: Chemical and thermodynamic considerations, *Hydrometallurgy* **113–114** (2012) 1–9, doi: <https://doi.org/10.1016/j.hydromet.2011.11.005>.
120. S. Nakamura, T. Toru, Product Class 11: Arenesulfonic acids and derivatives, u C. A. Ramsden (ur.), Science of synthesis: Houben-Weyl methods of molecular transformations volume 31a, Thieme Verlag KG, Stuttgart, 2007, str. 879–906.
121. J. P. Guthrie, Hydrolysis of esters of oxy acids: pK_a values for strong acids; Brønsted relationship for attack of water at methyl; free energies of hydrolysis of esters of oxy acids; and a linear relationship between free energy of hydrolysis and pK_a holding over a range of 20 pK units, *Can. J. Chem.* **56** (1978) 2342–2354, doi: <https://doi.org/10.1042/10.1139/v78-385>.

SUMMARY

Inorganic Sulphur Compounds in the Human Body. II. Thiocyanates.

*Sanja Stanković and Rudolf Kiralj**

Sulphur is the most abundant microelement in the human body, in the form not only of many organic but also of many inorganic compounds with diverse roles. This review presents inorganic sulphur compounds from the class of endogenous thiocyanate compounds present in the human body. The class is primarily produced from the thiocyanate anion SCN^- in enzymatic and non-enzymatic reactions in cells or in extracellular matrix. SCN^- is formed by detoxication of endogenous or exogenous cyanides, by action of the endogenous bacterial flora, in the metabolism of cyanogenic food, and during industrial intoxication. Molecular and ionic compounds are: thiocyanic, isothiocyanic, hypothiocyanic, (cyanido-C)sulphinic and (cyanido-C)sulphonic acid; salts of these acids and the anion 1,2,3-tricyanotrisulfide(1–) with the most abundant cations in the organism (Na^+ , K^+ , Ca^{2+} and Mg^{2+}); cyano thiocyanate and *bis*[(cyanido-C)sulphur](S-S) (thiocyanogen). The anions and molecules are endogenous reactive sulphur species with pseudohalogen properties. They exist in significant concentrations in body fluids, in which they have protective roles – detoxication (removal of cyanide) and antimicrobial functions (microbicidal and microbiostatic effect on various bacteria, some viruses, fungi and parasites). They are metabolically coupled with endogenous oxo-sulphur compounds in the human body. It is to be expected that investigations on the described class of sulphur compounds in the near future will explain molecular mechanisms of their action in the human body.

Keywords

Thiocyanates, hypothiocyanates, cyano thiocyanate, thiocyanogen, trithiocyanates, intermediates of hypothiocyanate decomposition

*Bjelovar University of Applied Sciences
Trg Eugena Kvaternika 4
43 000 Bjelovar
Croatia*

*Review
Received June 10, 2017
Accepted March 15, 2018*